



University of Groningen

## An NMR study of collagen hydration

Berendsen, Herman Johan Christiaan

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

### *Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

### *Publication date:*

1962

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

### *Citation for published version (APA):*

Berendsen, H. J. C. (1962). An NMR study of collagen hydration. s.n.

### **Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### **Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SUMMARY

In relation to the general problem of water structure in biological systems, a nuclear magnetic resonance (NMR) study has been carried out of the properties of water bound to *collagen*, the protein of connective tissue.

The significance of structural organization of water in biological systems is considerable, and many proposals of such organization have been made in the literature (Chapter I). Unfortunately, the experimental evidence is often unsatisfactory and none of the evidence is conclusive.

Previous NMR experiments on water in biological systems (Section III, 2) have not yielded much information about the structure of the absorbed water. Although the free rotation of the water molecule in the liquid state is apparently inhibited to some extent in the water of hydration, the proposed ice-like structures are not confirmed.

More structural information can be expected when NMR experiments are performed on samples of oriented material. We have carried out such experiments on bovine Achilles and rat-tail tendon over a wide range of water content, and we have found a strong dependence of the line shape on the angle between field and fiber direction.

Samples containing 10 to 45 gram water per 100 gram dry weight show an NMR absorption with three peaks, the middle peak resulting from other species of water molecules than those responsible for the side peaks. The former molecules are probably bound to less well-oriented regions of the macromolecules. The outer peaks are separated by as much as one gauss; their widths correspond to spin-spin relaxation times of 1 to  $3 \times 10^{-4}$  seconds (Section IV, 2. 2 and 3). The separation of the outer peaks has the angular dependence expected for proton interactions in the fiber direction.

At higher water contents, such as in the native state, the splitting of the NMR absorption is lost, but the line width has a strong angular dependence. Measurements of the second moments showed that this dependency is also consistent with proton interaction being in the fiber direction (Section IV, 2. 1). A theory of second moments in rotation-symmetric systems was developed for the purpose of interpreting these measurements (Section III, 3. 3).

The peak splitting is shown to be a result of interaction of the two protons in the same water molecule, which undergoes an anisotropic reorientation. It is postulated that water molecules form *chains* in the fiber direction. Proton re-

orientation processes which are expected to occur in such chains, in analogy with similar processes in ice, do indeed lead to the observed splitting. The life time of a molecule in a particular chain is estimated from the observed intermolecular interactions to be a few microseconds (Chapter V).

The axially repeating distance in a collagen macromolecule (28.6 Å, according to a model proposed by RICH and CRICK) equals six repeats in a chain of water molecules. This structural fit might act as a stabilizing factor for the existence of water chains.

The fit of biological macromolecules to a water lattice is considered more generally (Section VI, 2); it appears that many biological macromolecules fit in at least one direction into a water lattice. Such fits might affect the structure of water close to the macromolecule-water interface. Consideration of these structures has led to a new proposal for the structure of water: a cage structure with two pentagonal and five hexagonal faces, which is likely to occur in liquid water (Section II, 3) and which may build more extended structures around certain fibrous macromolecules (Section VI, 3).

## SAMENVATTING

Met betrekking tot algemene problemen betreffende de structuur van water in biologische systemen zijn de eigenschappen van water gebonden aan *collageen* (het structurele eiwit van bindweefsel) onderzocht met behulp van kernspinresonantie.

Het is van groot belang te weten of de structurele orde in water in biologische systemen groter is dan in de zuivere vloeistof. In de literatuur zijn een aantal suggesties in deze richting gedaan (Chapter I), maar experimentele gegevens zijn in het algemeen aanvechtbaar.

Uit kernspinresonantie-metingen, tot dusverre verricht aan water in biologische systemen (Section III, 2), zijn weinig gegevens verkregen over de structuur van geabsorbeerd water. Hoewel een beperking van de vrije rotatie, zoals een watermolekuul dit ondergaat in de vloeistof, is gekonstateerd, zijn de voorgestelde *ijs*structuren niet experimenteel bevestigd.

Wanneer metingen worden uitgevoerd aan georiënteerd materiaal, kunnen meer gegevens over de structuur van water worden verkregen. Zulke metingen hebben wij verricht aan runder- en rattestaart-pees, waarbij het watergehalte over een breed gebied werd gevarieerd; de vorm der absorptiekrommen bleek sterk afhankelijk te zijn van de hoek tussen het magnetisch veld en de richting van de vezel.

Bij een watergehalte tussen 10 en 45 gram per 100 gram drooggewicht geeft het absorptiespectrum drie toppen te zien, waarvan de middelste van andere watermolekulen afkomstig is als die welke tot de buitenste toppen leiden. De molekulen die met de middelste top corresponderen komen waarschijnlijk voor in minder goed georiënteerde gedeelten van de collageen-makromolekulen. De afstand tussen de buitenste toppen bedraagt maximaal een gauss; de breedte ervan komt overeen met spin-spin relaxatietijden tussen 1 en  $3 \times 10^{-4}$  sec (Section IV, 2.2 en 3). De hoekafhankelijkheid van de afstand tussen de buitenste toppen wijst er op dat de wisselwerking der protonen plaats vindt in de vezelrichting.

Bij hoger watergehalte, zoals in de natuurlijke toestand voorkomt, wordt de splitsing der absorptiekromme niet meer waargenomen; de breedte der absorptielijn is evenwel sterk afhankelijk van de hoek tussen veld en vezelrichting. Bepalingen van het kwadratisch moment der krommen bevestigen dat de wisselwerking tussen de protonen plaats vindt in de vezelrichting (Section IV, 2.1). In verband met

deze metingen werd een theorie van kwadratische momenten in rotatie-symmetrische systemen ontwikkeld. (Section III, 3. 3).

De splitsing der absorptiekrommen blijkt een gevolg te zijn van de wisselwerking tussen de twee protonen van één watermolekuul, welk een anisotrope reöorientatie ondergaat. Wanneer aangenomen wordt dat de watermolekullen *ketens* vormen in de vezelrichting, kan de waargenomen splitsing kwantitatief verklaard worden door het optreden van zekere proton-reorientatieprocessen, analoog aan die welke in ijs optreden. De levensduur van een molekuul in een bepaalde keten, berekend uit de waargenomen intermoleculaire wisselwerking, bedraagt enkele mikrosekonden. (Chapter V).

De herhalingsafstand in axiale richting in een collageen makromolekuul (28,6 Å, volgens een model voorgesteld door RICH en CRICK) is juist zes maal de herhalingsafstand in een keten van watermolekullen. Deze strukturele overeenkomst zou kunnen bijdragen tot de stabiliteit van waterketens.

Een nadere beschouwing van strukturele overeenkomsten tussen biologische makromolekullen en water (Section VI, 2) geeft te zien dat vele biologische makromolekullen in tenminste één richting passen aan een waterrooster. Zulke overeenkomsten zouden de struktuur van water dicht bij de grenslaag water-makromolekuul kunnen beïnvloeden. De beschouwing van deze strukturen heeft geleid tot het voorstellen van een nieuw struktuurmodel voor water, waarin twee vijfhoeken en vijf zeshoeken voorkomen. Deze struktuur komt waarschijnlijk voor in vloeibaar water (Section II, 3) en kan ook de basis vormen van uitgebreide strukturen rondom langgerekte makromolekullen met vijf- en tienvoudige symmetrie (Section VI, 3).

2298  
1962